

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
24. Juli 2003 (24.07.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/060055 A2(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12M

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP03/00211

(22) Internationales Anmeldedatum:
11. Januar 2003 (11.01.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 01 259.8 15. Januar 2002 (15.01.2002) DE

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: BADER, Augustinus [DE/DE]; Hinter den langen Höfen 16, 31275 Lehrte-Immensen (DE).

(74) Anwalt: LORENZ, Werner; Alte Ulmer Strasse 2, 89522 Heidenheim (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CN, CO, CR, CU, DM, DZ, EC, EE, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, RO, RU, SD, SG, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärungen gemäß Regel 4.17:

- hinsichtlich der Identität des Erfinders (Regel 4.17 Ziffer i) für alle Bestimmungsstaaten
- hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii) für alle Bestimmungsstaaten
- hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, die Priorität einer früheren Anmeldung zu beanspruchen (Regel 4.17 Ziffer iii) für alle Bestimmungsstaaten
- Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US

Veröffentlicht:

- ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: DEVICE FOR RAISING OR CULTIVATING CELLS IN A CONTAINER-LIKE RECEPTACLE

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG ZUM ZÜCHTEN KULTIVIEREN VON ZELLEN IN EINEM DOSENARTIGEN BEHÄLTER

(57) Abstract: A device for raising or cultivating cells in a container-like receptacle, comprises a base and at least one lid. The at least one lid is connected to the receptacle in a pressure-tight manner. The receptacle or the lid is provided with at least one connector drilling for the introduction and/or extraction of culture medium and/or oxygen.

(57) Zusammenfassung: Eine Vorrichtung zum Züchten oder Kultivieren von Zellen in einem dosenartigen Behälter weist einen Boden und wenigstens einen Deckel auf. Der wenigstens eine Deckel ist druckdicht mit dem Behälter verbunden. Der Behälter oder der Deckel ist mit wenigstens einer Anschlussbohrung für die Zufuhr und/oder Abfuhr von Nährmedium und/oder Sauerstoff versehen.

Vorrichtung zum Züchten oder Kultivieren von Zellen in einem dosenartigen Be-
hälter

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zum Züchten oder Kultivieren von Zellen in einem dosenartigen Behälter, der einen Boden und wenigstens einen Deckel aufweist.

Für den Laborbedarf ist es bekannt, Zellkulturen in einem flachen Behälter bzw. einer Schale zu züchten oder zu kultivieren, wobei die Zellen einfach in den Behälter eingelegt und Nährmedium zugegeben wird. Anschließend wird auf den Behälter ein Deckel aufgelegt.

Nachteilig dabei ist, daß dieses Verfahren nur für geringe Mengen angewendet werden kann. Insbesondere für eine Serienkultivierung oder Serienzüchtung von Zellen ist das bekannte System nicht geeignet. Darüber hinaus können keine "in-vivo"-Verhältnisse erreicht werden und es ist keine Sterilität gesichert.

Eine Alternative dazu bestand darin, daß mit einem geschlossenen System gearbeitet wurde, das einen Behälter mit einem Deckel oder Verschuß aufwies, wobei eine Sterilität möglich war. Nachteilig dabei war jedoch, daß die Entnahme der Zellkultur sehr umständlich und aufwendig war.

Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung der eingangs erwähnten Art derart zu verbessern, daß sie auf die vielfältigste Weise zum Züchten

oder Kultivieren von Zellen verwendet werden kann, insbesondere im Massenbetrieb, wobei soweit wie möglich "in-vivo"-Verhältnisse und eine Sterilität erreicht werden sollen. Außerdem sollen sich die Zellkulturen nach ihrer Züchtung auch ohne deren Beschädigung ohne großen Aufwand aus dem Behälter entnehmen lassen.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe durch die im kennzeichnenden Teil von Anspruch 1 genannten Merkmale gelöst.

Entsprechend der erfindungsgemäßen Vorrichtung werden die Zellen in dem Behälter nunmehr "nicht mehr nur sich selbst überlassen", sondern es findet praktisch ein aktiver Prozeß statt. Zum einen kann kontinuierlich oder diskontinuierlich Nährmedium zugeführt werden und zum anderen ist es möglich, die sich bildenden Zellkulturen mit Druck zu beaufschlagen. Dabei kann die Druckbeaufschlagung sogar mit wechselndem Druck erfolgen, um natürliche Verhältnisse so weit wie möglich nachzubilden.

Die Zellen können dabei als separate Zellkulturen gezüchtet oder kultiviert werden. In gleicher Weise können sie auch auf Strukturen gebildet werden, um Implantate zu erzeugen.

In dem erfindungsgemäßen Behälter können auf diese Weise durch eine entsprechende Druckbeaufschlagung die Zellen auch Scher- oder Druckkräften ausgesetzt werden. Mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung lassen sich die verschiedensten Zellkulturen auf sehr universelle Weise züchten oder kultivieren.

Der Behälter selbst kann für diesen Zweck auch auf verschiedene Weise mit ein oder zwei Deckeln versehen sein. Ebenso kann eine gemeinsame Anschlußbohrung für den Zulauf von Nährmedium und für dessen Rücklauf vorgesehen sein. Selbstverständlich sind auch getrennte Anschlußbohrungen möglich, wobei Parallelströmungen oder auch Durchströmungen, je nach Anordnung der Anschlußbohrungen, möglich sind.

Durch die erfindungsgemäße Ausgestaltung mit ein oder zwei Deckeln oder Deckel und Boden nebst dazwischenliegendem Behälter, der in einfacher Weise lediglich ein auf der Unterseite und der Oberseite offener Zylinder sein kann, können die Zellkulturen nach ihrer Behandlung bzw. Züchtung ohne großen Aufwand und ohne deren Schädigung auf einfache Weise aus dem Behälter entnommen werden.

Da erfindungsgemäß die Züchtung oder Kultivierung der Zellen auf dem unteren Deckel oder Boden oder auch unter dem oberen Deckel, z.B. auf einem mit dem oberen Deckel verbundenen Gestell erfolgt, können die Zellkulturen nach ihrer Fertigstellung auf einfache Weise aus dem Behälter entnommen werden. Auf jeden Fall ist durch die abnehmbaren Deckel oder Boden eine hohe Zugänglichkeit gegeben.

Für eine Druckbeaufschlagung kann der Behälter, z.B. die zylinderförmige Behälterumfangswand, auch elastisch ausgebildet sein.

Die Anschlußbohrung oder die Anschlußbohrungen können dabei in einem Deckel oder bei Vorhandensein von zwei Deckeln in beiden Deckeln angeordnet sein. Ebenso ist es auch möglich, die Anschlußbohrungen in den zylinderförmigen Mittelteil

einzubringen. Die Anzahl und die Anordnung der Anschlußbohrungen richtet sich dabei jeweils nach dem Einsatzfall und der zu züchtenden oder kultivierenden Zellen.

Für eine dichte Verbindung zwischen dem oder den Deckeln und dem Behälter können Klemmverbindungen, Dichtringe oder auch Gewindeverbindungen mit Innen- und Außengewinden vorgesehen sein.

Sehr gute Abdicht- und damit Druckverhältnisse ergeben sich, wenn der oder die Deckel mit Verlängerungsringen versehen sind, die dann außenseitig dichtend den zylinderförmigen Mittelteil des Behälters umschließen.

Wenn man die erfindungsgemäße Vorrichtung einer Roll- oder Drehbewegung unterwerfen möchte, können seitlich auf die Vorrichtung Spannringe aufgebracht werden, die den oder die Deckel und den Behälter umfassen und an denen dann Dreh- oder Rolleinrichtungen angebracht werden können.

Für ein Unterdrucksetzen des einen Zellkulturraum bildenden Inneren des Behälters sind die verschiedenartigsten Druckbeaufschlagungseinrichtungen möglich. Hierzu sind z.B. Zylinder-/Kolbeneinheiten geeignet, die auch für eine wechselnde Druckbelastung entsprechend pulsierend operieren können.

Im Bedarfsfalle kann man den Behälter auch als Zweikammersystem ausbilden, um zwei verschiedene Zellen oder auch zwei gleiche Zellen getrennt voneinander kultivieren oder züchten zu können.

In diesem Falle ist es von Vorteil, wenn man den Deckel des Behälters mit einer Hängeeinrichtung versieht, an der eine Plattform zur Aufnahme von Zellen angeordnet ist. Damit erfolgt die Züchtung von einer Zellenart auf der Plattform, während eine weitere Zellkultivierung auf dem Boden des Behälters erfolgen kann.

Der Behälter bzw. die zylindrische Umfangswand des Behälters kann im Bedarfsfalle ebenfalls porös bzw. gasdurchlässig ausgebildet sein, so daß auf diese Weise ebenfalls noch Nährmittel und/oder ein gasförmiges Medium, wie z.B. Luft oder Sauerstoff, von dieser Seite aus zugeführt werden kann.

Vorteilhafte Weiterbildungen und Ausgestaltungen ergeben sich aus den übrigen Unteransprüchen und aus den nachfolgend anhand der Zeichnung prinzipmäßig dargestellten Ausführungsbeispielen.

Es zeigt:

- Fig.1 einen Schnitt durch eine erste Ausführungsform einer Vorrichtung mit einem Behälter und einem Deckel;
- Fig.2 einen Schnitt durch eine Vorrichtung mit einem zylinderförmigen Mittelteil und einem oberen und einem unteren Deckel;
- Fig.3 eine ähnliche Ausgestaltung wie in der Fig. 2 dargestellt, wobei ein Zulaufanschluß und ein Rücklaufanschluß im oberen Deckel angeordnet sind;

- Fig. 4 eine weitere Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtungsform;
- Fig. 5 eine erfindungsgemäße Vorrichtung mit einem oberen Deckel und einem unteren Deckel, jeweils mit Außengewinde und einem zylinderringförmigen Mittelteil mit Innengewinde;
- Fig. 6 eine Ausführungsform mit Verlängerungsringen an einem oberen Deckel und einem unteren Deckel;
- Fig. 7 eine ähnliche Ausgestaltung wie die Fig. 6 mit einer Klemmverbindung;
- Fig. 8 eine ähnliche Ausgestaltung wie in Fig. 6 und 7 mit Gewindeverbindungen;
- Fig. 9 eine Ausführungsform mit zwei seitlichen Spannringen;
- Fig. 10 eine Ausführungsform ähnlich der Ausführungsform nach Fig. 9 mit einer Druckbeaufschlagungseinrichtung;
- Fig. 11 eine Ausführungsform mit einer Hängereinrichtung im oberen Deckel, mit einem zylinderförmigen Mittelteil und einem unteren Deckel;
- Fig. 12 eine ähnliche Ausgestaltung wie Fig. 11 in etwas einfacher Form mit nur einem oberen Deckel;

Fig. 13 eine Ausgestaltung mit einer durch Magnetkräften erzeugten Druckkraft;

Fig. 13a, 13b und 13c verschiedene Druckscheibenprofile;

Fig. 13d eine mineralische Matrix für Knochenersatz als Trägerstruktur mit zwei Druckscheiben;

Fig. 14 eine Ausgestaltung mit expansionsfähigen Elementen zur Erzeugung von Druckkräften;

Fig. 15 eine Ausgestaltung mit hydraulischen oder pneumatischen Elementen zur Erzeugung von Druckkräften;

Fig. 16 eine ähnliche Ausgestaltung wie die in der Fig. 15 besprochene Ausgestaltung;

Fig. 17 eine weitere ähnliche Ausgestaltung wie in den Figuren 15 und 16;

Fig. 18 eine Ausgestaltung mit einer gas-permeablen Membrane als Boden;

Fig. 19 eine Ausgestaltung mit einem Dreikammer-System;

Fig. 20 eine ähnliche Ausgestaltung wie in der Fig. 19.

Gemäß Ausführungsbeispiel in der Fig. 1, welche die grundsätzliche Ausgestaltung der erfindungsgemäßen Vorrichtung zeigt, ist ein Behälter 1 vorgesehen, der mit einem Außengewinde 2 versehen ist. Auf den Behälter 1 wird ein Deckel 3 mit einem Innengewinde 4 aufgeschraubt, wobei ein Dichtring

5 für einen druckdichten Abschluß eines in dem Inneren des Behälters 1 vorgesehenen Zellkulturraums 6 für Zellen 7 bildet.

In den Deckel 3 ist eine Zulaufanschlußbohrung 8 und eine Rücklaufanschlußbohrung 9 vorgesehen, um über entsprechende Leitungs- oder Schlauchverbindungen Nährmedium und gegebenenfalls auch Sauerstoff in den Zellkulturraum 6 einzubringen.

Zur leichteren Handhabung kann in den Behälter 1 ein Einsatz 10 vorgesehen sein, um die zu kultivierenden oder zu züchtenden Zellen 7 leichter einsetzen und herausnehmen zu können. Hierzu können auch Umbördelungen, Abkantungen 11 oder ähnliches dienen, die im oberen Bereich des Einsatzes 10 für eine leichtere Entnahme und ein leichteres Einsetzen vorgesehen sind. Der nur in der Fig. 1 dargestellte Einsatz 10 kann selbstverständlich auch in gleicher oder ähnlicher Weise bei den anderen Ausführungsbeispielen vorgesehen sein.

Fig. 2 zeigt eine Ausgestaltung, wobei der Behälter 1 ein zylinderförmiges Mittelteil bildet, der in gleicher Weise wie bei dem Ausführungsbeispiel nach Fig. 1 mit dem oberen Deckel 3 abgeschlossen werden kann. Auf der Unterseite ist ein weiterer unterer Deckel 12 vorgesehen, der den Boden des Behälters bildet und der ebenfalls ein Innengewinde 4 aufweist, welches mit dem Außengewinde 2 des Mittelteiles zusammenwirkt, wobei in diesem Fall das Mittelteil mit zwei Außengewinden 2 versehen ist, sofern nicht ein durchgehendes Gewinde vorgesehen ist. Wie weiterhin aus der Fig. 2 ersichtlich ist, sind dabei Zu- und Rücklaufanschlußbohrungen 8 und 9 in beiden Deckeln 3 und 12 vorgesehen.

Fig. 3 zeigt eine ähnliche Ausgestaltung wie Fig. 2, wobei eine Zulaufanschlußbohrung 8 und ein Rücklaufanschlußbohrung 9 nur im oberen Deckel 3 angeordnet sind. Ebenso wie bei dem Ausführungsbeispiel nach Fig. 2 sind an beiden Stirnseiten des zylinderringförmigen Mittelteiles des Behälters 1 Dicht-
ringe 5 vorgesehen.

Fig. 4 zeigt eine Ausführungsform, wobei das zylinderförmige Mittelteil als Behälter 1 mit einem Innengewinde 2' versehen ist, welches jeweils mit einem Außengewinde 4' des oberen Deckels 3 und des unteren Deckels 12 zusammenarbeitet. Auch hier sind wiederum auf beiden Stirnseiten des Behälters 1 Dichtringe 5 vorgesehen. In diesem Fall befindet sich eine Zulaufanschlußbohrung 8 im oberen Deckel 3 und eine Rücklaufanschlußbohrung 9 im unteren Deckel 12.

Fig. 5 zeigt eine ähnliche Ausgestaltung wie Fig. 4. Der wesentliche Unterschied besteht lediglich darin, daß die Zulaufanschlußbohrung 8 und die Rücklaufanschlußbohrung 9 sich gegenüberliegend in dem zylinderringförmigen Mittelteil des Behälters 1 angeordnet sind.

Fig. 6 zeigt eine Ausführungsform mit einem zylinderringförmigen Mittelteil als Behälter 1, einem oberen Deckel 3 und einem unteren Deckel 12. Dabei weisen beide Deckel 3 und 12 jeweils ein Außengewinde 4' auf, welches mit Innengewinden 2' des Behälters 1 zusammenwirkt. Zusätzlich sind beide Deckel 3 und 12 mit radialen Erweiterungen 13 versehen, von deren äußeren Enden aus sich parallel zur Längsachse des Behälters 1 zu dem Behälter 1 gerichtete bzw. axial gerichtete Verlängerungsringe 14 erstrecken. Die Verlängerungsringe 14

umschließen die Außenwand des Behälters 1 und stellen zusammen mit zusätzlichen Dichtringen 5' einen druckdichten Abschluß für den Zellkulturraum 6 dar. Der obere Deckel 3 ist mit einer gemeinsamen Anschlußbohrung 8, 9 für die Zufuhr und den Rücklauf von Nährmedium versehen.

Fig. 7 zeigt eine ähnliche Ausführungsform wie Fig. 6. Der wesentliche Unterschied besteht lediglich darin, daß anstelle einer Gewindeverbindung 2', 4' ein druckdichter Abschluß des Zellkulturraumes 6 durch Klemmverbindungen zwischen den Verlängerungsringen 14 und der Außenwand des Behälters 1 geschaffen ist.

Fig. 8 zeigt eine Ausführungsform, ähnlich denen nach den Fig. 6 und 7. Der wesentliche Unterschied besteht dabei darin, daß die Gewindeverbindung zwischen dem Behälter 1 und den Deckeln 3 und 12 durch Innengewinde 4' in den Verlängerungsringen 14 gebildet ist, die mit Außengewinden 2' in dem Behälter 1 zusammenwirken.

Fig. 9 zeigt eine Ausführungsform mit einem Behälter 1 und einem oberen Deckel 3, ähnlich der Ausführungsform nach der Fig. 8, wobei anstelle einer gemeinsamen Anschlußbohrung 8, 9 für die Zufuhr und die Abfuhr von Nährmedium in der Umfangswand des Behälters 1 eine Zulaufanschlußbohrung 8 und eine Rücklaufanschlußbohrung 9 angeordnet sind. Zusätzlich zeigt die Fig. 9 zwei seitliche Spannringe 15, die um den dosenförmigen Behälter 1 und den Deckel 3 in Pfeilrichtung aufgeschoben werden, um die Einheit aus Behälter 1 und Deckel 3 durch eine nicht dargestellte Dreh- oder Rolleinrichtung um die Querachse in Pfeilrichtung 16 zu drehen oder zu rollen.

Fig. 10 zeigt eine ähnliche Ausgestaltung wie in der Fig. 9. In diesem Fall ist in dem Inneren des Behälters 1 ein eigener Zellkulturraum 6 gebildet. Anstelle eines Zellkulturraumes 6 kann auch eine Struktur vorgesehen sein, auf der die Zellen 7 gezüchtet werden. Der separate Zellkulturraum 6 oder die Struktur wird in diesem Falle über eine Druckbeaufschlagungseinrichtung 17 in Form einer Zylinder-/Kolbeneinheit mit Druck beaufschlagt.

In einem Kolbenraum 18 der Zylinder-/Kolbeneinheit 17 mündet die Zulaufanschlußbohrung 8, welche im Eingangsbereich durch ein Rückschlagventil 19 absperrrbar ist. Durch einen Kolben 20 der Zylinder-/Kolbeneinheit 17 wird das über die Zulaufanschlußbohrung 8 eingebrachte Nährmedium unter Druck gesetzt, wobei sich dieser Druck bis in das Innere des Behälters 1 fortsetzt. Über eine Rücklaufanschlußbohrung 9 auf der dem Zulauf gegenüberliegenden Seite des Behälters 1 erfolgt eine Abführung von Nährmedium. Wenn man den Innenraum des Behälters 1 entsprechend unter einen Überdruck setzen möchte, der gegebenenfalls wechselnd sein kann, wird man in diesem Falle den Rücklauf von Nährmedium drosseln oder die Rücklaufanschlußbohrung 9 entsprechend absperren.

Anstelle einer Zufuhr von Nährmedium über die Zulaufanschlußbohrung 8 kann hierfür auch eine gesonderte Bohrung in einen der beiden Deckel 3 oder 12 oder in der Umfangswand des Behälters 1 vorgesehen sein. In diesem Falle kann man auch durch Gas, z.B. Luft, den Innenraum des Behälters 1 und damit den Zellkulturraum 6 entsprechend unter Druck setzen.

Die Fig. 11 zeigt eine Ausführungsform mit einem oberen Deckel 3 und einem unteren Deckel 12 und einem zylinderringförmigen Mittelteil eines Behälters 1. In diesem Falle ist der obere Deckel 3 mit einer Hängeeinrichtung in Form von mehreren über den Umfang verteilt angeordneten Stäben 21 versehen, die sich parallel zur Längsachse des Behälters 1 in das Innere des Behälters 1 erstrecken. Am unteren Ende der Stäbe 21 ist eine Plattform 22 befestigt, auf der die zu kultivierenden oder zu züchtenden Zellen 7 angeordnet werden. Die Zulaufanschlußbohrung 8 und die Rücklaufanschlußbohrung 9 können jeweils in der Umfangswand des Behälters 1 angeordnet sein. Selbstverständlich ist jedoch auch eine Anordnung in einem der beiden Deckel 3 oder 12 möglich, wie dies gestrichelt angedeutet ist. Auch hier sind selbstverständlich auch getrennte Anschlußbohrungen für Zulauf und Ablauf möglich.

Der Vorteil der Ausführungsform mit der Hängeeinrichtung durch die Stäbe 21 besteht darin, daß sich auf diese Weise die Zellen 7 leichter in den Behälter 1 einsetzen und daraus entnehmen lassen.

Die Verbindung der Stäbe 21 mit der Plattform 22 kann im Bedarfsfalle auch lösbar sein. Eine Lösbarkeit kann z.B. durch eine Clipverbindung erfolgen, wodurch ebenfalls eine leichtere Handhabung für die Vorrichtung erreicht wird.

Fig. 12 zeigt eine Ausführungsform, die ähnlich der in der Fig. 11 dargestellten Ausführungsform ist. Wie ersichtlich, weist sie nur einen oberen Deckel 3 und einen Behälter 1 mit einem Boden 23 auf, wie er auch bei den übrigen Ausführungsformen mit nur einem Deckel 3 vorhanden ist. Die Plattform

22 ist in diesem Falle ebenfalls über Stäbe 21 mit dem oberen Deckel 3 verbunden.

Ein weiterer Vorteil der Ausführungsformen nach den Fig. 11 und 12 besteht darin, daß auf dem Behälterboden 23 bzw. der Innenseite des Deckels 12 zusätzlich noch eine weitere Möglichkeit für eine Züchtung oder Kultivierung von Zellen 7 gegeben ist. Auf diese Weise wird ein Zweikammersystem für die Kultivierung von zwei Zellkulturen geschaffen.

Anstelle von Zulaufanschlußbohrungen 8 und Rücklaufanschlußbohrungen 9 für Nährmedium kann selbstverständlich auch Nährmedium dauerhaft in den Behälter 1 eingebracht werden und die Zulaufanschlußbohrungen 8 und die Rücklaufanschlußbohrungen 9 dienen dann nur zur Sauerstoffversorgung.

Alternativ dazu ist es auch möglich, jeweils gesonderte Anschlußbohrungen für Sauerstoff und Nährmedium vorzusehen.

Die Plattform 22 kann als feste Einheit ausgebildet sein. Alternativ dazu ist es auch möglich, hierfür eine Membrane, z.B. eine poröse Membrane, vorzusehen, die eine Durchströmung von Sauerstoff zuläßt.

In den Figuren 13 bis 20 sind weitere Ausgestaltungen der Erfindung beschrieben, wobei der grundsätzliche Aufbau der Vorrichtung mit dem Behälter 1 und den beiden Deckeln 3, 12 und/oder dem Boden 23 beibehalten worden ist, weshalb zur Vereinfachung nur die wesentlichen Bezugszeichen in den nachfolgend beschriebenen Figuren übernommen worden sind.

Fig. 13 zeigt einen Behälter, in welchem im Bereich des oberen Deckels 3 eine Magneteinrichtung 24, z.B. eine Magnetspule, die von Strom durchflossen wird, eingebaut ist. Unter der Magneteinrichtung 24 befindet sich eine magnetisierbare Druckscheibe 25, welche in nicht näher dargestellter Weise elastisch mit dem Behälter 1 verbunden ist.

Durch eine Bewegung der Druckscheibe 25 aufgrund Aktivierung der Magneteinrichtung 24, die z.B. durch wechselnde Stromrichtungen erzeugt wird, wird eine innere Druckbelastung auf die Zellen 7 ausgeübt.

Die Fig. 13a zeigt eine Draufsicht auf das Profil einer Druckscheibe 25, wobei kleine Öffnungen 26 vorgesehen sind, damit Kulturmedium, das sich im Inneren des Behälters 1 befindet, passieren kann.

Die Fig. 13b und 13c zeigen alternative Druckscheiben 25 in Netzstruktur- oder Gitterstrukturform, damit Kulturmedium passieren kann.

Selbstverständlich kann die Magnetspule als Magneteinrichtung 24 auch außerhalb des Deckels 3 über diesem angeordnet werden. Bei dieser Ausgestaltung muß der Deckel 3 selbstverständlich aus nicht magnetisierbarem Material bestehen, z.B. Kunststoff. In diesem Fall kann man entsprechend große Magneteinrichtungen 24 vorsehen und damit entsprechend hohe Druckkräfte erzeugen.

Fig. 13d zeigt eine Ausgestaltung eines Implantates, wobei Knorpelprofile 27 auf einer mineralischen Matrix für Knochenersatz als Trägerstruktur 27a angeordnet sind. Dabei

sind zwei übereinander angeordnete Trägerstrukturen vorgesehen, an welchen jeweils eine Druckscheibe 25 angeordnet ist. Die mineralische Matrix kann z.B. eine Knochenstruktur, z.B. aus Kalziumphosphat, sein.

Die mineralische Matrix kann auch andere Profile aufweisen, wie sie als Implantate benötigt werden, wie z.B. Gelenkstrukturen. Dabei kann selbstverständlich auch von der Kreisform abgewichen werden. Gleiches gilt grundsätzlich auch für den Behälter 1.

Fig. 14 zeigt eine Ausgestaltung mit expansionsfähigen Elementen 28, welche eine beweglich in dem Behälter 1 oder dem Deckel 3 angeordnete Platte 29, ähnlich wie die Druckscheiben 25, axial verschieben und damit wechselnde Druckkräfte auf die Zellen 7 ausüben können. Als expansionsfähige Elemente können z.B. sogenannte Memory-Metalle oder -Kunststoffe verwendet werden, die sich verformen und wieder in die alte Form zurückkehren. So gibt es z.B. auch Kunststoffe, die sich durch elektrische Veränderung ausdehnen können. Elemente mit Memoryfunktion reagieren z.B. auf bestimmte Temperaturen oder auf eine Ultraschall-Beschallung und ändern auf diese Weise ihre Lage, womit sie eine Bewegung der Platte 30 erzeugen. Auch Federeinrichtungen sind möglich, ebenso wie Motoren mit Akkumulatoren oder Batterien.

Fig. 15 zeigt ebenfalls eine innere Druckbeaufschlagung von Zellen 7 durch eine hydraulische oder pneumatische Einrichtung 30, die in dem Behälter 1 bzw. in dem Deckel 3 angeordnet ist. Wie ersichtlich, weist die Einrichtung 30 eine bewegliche Folie, Platte oder Membrane 31 auf, hinter der sich

eine hydraulische Flüssigkeit oder ein Gas als Fluid befindet. Die hydraulische Flüssigkeit oder das gasförmige Medium wird durch eine nicht näher dargestellte Druckeinrichtung P mit wechselndem Druck beaufschlagt, womit wechselnde Druckbelastungen auf die Zellen 7 ausgeübt werden. Anstelle einer elastischen Platte oder Membrane 31 kann im Bedarfsfalle auch ein Ballon verwendet werden, um eine größere Variationsmöglichkeit zu ergeben. Dabei können z.B. alle Wände des Behälters auf der Innenseite von einem derartigen Beutel oder Ballon umschlossen werden, wobei sich das Implantat bzw. die Zellkulturen im Inneren befinden. Auf diese Weise wird von außen her allseitig eine wechselnde Druckbelastung ausgeübt.

Die Fig. 16 zeigt eine ähnliche Ausgestaltung, wobei die Zellen 7 in einem Gel 32 liegen.

In der Fig. 17 ist ebenfalls eine ähnliche Ausgestaltung wie in der Fig. 16 dargestellt, wobei die Abdichtung zwischen dem oberen Deckel 3 und dem unteren Deckel 12 durch Abdichtungen 33 und 34 erfolgt.

In der Fig. 18 ist eine Ausgestaltung dargestellt, wobei der Boden des Behälters durch eine gas-permeable Membrane 35, z.B. aus PTFE oder Silikon, gebildet ist. Wesentlich ist, daß durch die Membrane 35 Sauerstoff in den Behälter 1 treten kann. Auch bei dieser Ausgestaltung läßt sich ein Implantat, das im Behälterinneren aufwächst, auf einfache Weise entnehmen. Eine derartige Ausgestaltung ist z.B. geeignet, um Epidermis 36, d.h. die Oberschicht einer Haut, auf der Membrane 35 aufwachsen zu lassen. Dabei bekommen die Zellen Luft über die gas-permeable Membrane 35. Das Ziel dabei ist,

die Zellen von der Unterseite nach oben wachsen zu lassen. Zusätzlich wird dann darüber eine Dermis 37 aufgebracht, wobei die Zellen in einer Collagenstruktur oder in Fibrin gelagert sind bzw. eingegossen sind. Von der Oberseite aus bzw. über der Dermis 37 befindet sich dabei ein Reinraum 38, in welchem Luft, Sauerstoff und/oder Kohlendioxid eingebracht wird. Auch hier ist eine Druckbeaufschlagung möglich.

Auf diese Weise erhält man eine Hautstruktur, wie sie auch real vorhanden ist. Im Bedarfsfall können auch noch verschiedene andere Zellen hinzugefügt werden, z.B. Endothelzellen, um dann noch auf der Oberseite eine Vaskularisation zu erreichen.

Um eine Sterilität und einen Schutz für die Membrane 35 zu erreichen, kann im Bedarfsfalle unterseitig noch eine Abdeckstruktur 39 dicht aufgesetzt oder aufgeschraubt werden.

Innenseitig kann der Behälter mit einer abziehbaren Folie 40 für Transplantationen versehen sein. Nach Beendigung der Kultivierung der Zellen wird in diesem Falle die Abdeckstruktur 39 abgenommen und dann die Folie 40 wie eine Art Pflaster abgezogen. Auf diese Weise läßt sich das Implantat auf einfache Weise entfernen und anschließend anwenden. Dabei liegt dann die Dermis 37 lagerichtig auf der Wunde und die Epidermis 36, wenn die Folie abgezogen wird, außenseitig darüber.

Anstelle einer Abdeckstruktur 39 kann auch eine Kammer mit seitlichen Öffnungen vorgesehen sein, wobei ein Sterilfilter aufgesetzt ist.

In der Fig. 19 ist eine ähnliche Ausgestaltung wie in der Fig. 18 dargestellt. Hier ist im Unterschied dazu ein Mehrkammersystem gebildet mit einer oberen Kammer 41, einer mittleren Kammer 42 und einer unteren Kammer 43. Für alle drei Kammern 41, 42, 43 können separate Zu- und Abläufe vorgesehen werden. So kann z.B. in der Kammer 41 die Epidermis 36 angeordnet sein, in der Kammer 42 die Dermis 38 und die untere Kammer 43 dient zur Zufuhr von Luft oder Sauerstoff. In die Kammer 41 kann Nährmedium in einem ersten Schritt eingebracht werden. Anschließend in einer zweiten Phase, nachdem die Zellen 7 angewachsen sind, wenn man eine Ausdifferenzierung erreichen möchte, kann man Sauerstoff oder Luft in die Kammer 41 eingeben, damit die Epidermiszellen 36 eine trockene Umgebung erhalten und dann austrocknen und verhornen können. Auf diese Weise wird dann die Hautoberschicht gebildet. Wenn man dann das ganze implantieren möchte, kann man auf einfache Weise den Behälter öffnen und das Implantat entnehmen.

Falls die in der Kammer 42 angeordneten Zellen 7 eine Trägerstruktur benötigen, kann unterseitig als Abschluß ein poröser Träger oder Membrane 44 vorgesehen sein, die die Trennung zwischen der Kammer 42 und der Kammer 43 darstellt.

P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Vorrichtung zum Züchten oder Kultivieren von Zellen in einem dosenartigen Behälter, der einen Boden und wenigstens einen Deckel aufweist,
dadurch gekennzeichnet, daß
der wenigstens eine Deckel (3) druckdicht mit dem Behälter (1) verbunden ist, und daß der Behälter (1) oder der Deckel (3) mit wenigstens einer Anschlußbohrung (8) zur Zufuhr und/oder Abfuhr von Nährmedium und/oder Sauerstoff versehen ist.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Zellen (7) direkt oder indirekt in oder unter dem Deckel (3) und/oder auf dem Boden (23,35,44) oder einem unteren Deckel (12) züchtbar oder kultivierbar sind.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Behälter (1) mit einem Einsatz (10) auf dem Boden versehen ist, in den die Zellen (7) einlegbar sind.
4. Vorrichtung nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Behälter (1) ein zylinderförmiges Mittelteil aufweist, der an beiden Stirnseiten jeweils durch einen oberen Deckel (3) und einen unteren Deckel (12), der den Boden des Behälters (1) bildet, abgeschlossen ist.
5. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 4,

- d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß
der oder die Deckel (3,12) und der Behälter (1) durch
eine Gewindeverbindung (2,4) miteinander verbunden sind.
6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß
der oder die Deckel (3,12) jeweils mit einer Zulaufbohrung (8) und/oder einer Rücklaufbohrung (9) versehen sind.
7. Vorrichtung nach Anspruch 4,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß
beide Deckel (3,12) jeweils mit wenigstens einer Bohrung versehen sind, wobei in einem Deckel (3) die wenigstens eine Zulaufbohrung (8) und in dem anderen Deckel (12) die wenigstens eine Rücklaufbohrung (9) angeordnet ist.
8. Vorrichtung nach Anspruch 5,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß
die Gewindeverbindung zwischen dem Deckel (3) und dem Behälter (1) durch ein Innengewinde (2') in dem Behälter (1) und ein damit zusammenarbeitendes Außengewinde (4') in dem oder den Deckeln (3,12) hergestellt ist.
9. Vorrichtung nach Anspruch 5,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß
die Gewindeverbindung durch ein Innengewinde (4) in dem oder den Deckeln (3,12) und ein Außengewinde (2) in dem Behälter (1) hergestellt ist.
10. Vorrichtung nach Anspruch 5, 8 oder 9,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß

die Gewindeverbindung mit wenigstens einem Dichtring (5) versehen ist.

11. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 4,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Behälter (1) als zylinderförmiges Mittelteil ausgebildet ist, wobei beide Stirnseiten des Mittelteiles jeweils durch einen oberen Deckel (3) und einen unteren Deckel (12) abgeschlossen sind, wobei beide Deckel (3,12) jeweils mit einem Verlängerungsring (14) versehen sind, die wenigstens teilweise das zylinderförmige Mittelteil außenseitig dichtend umschließen.
12. Vorrichtung nach Anspruch 11,
dadurch gekennzeichnet, daß
der oder die Verlängerungsringe (14) über eine Klemmverbindung jeweils das Mittelteil außenseitig abdichten.
13. Vorrichtung nach Anspruch 11,
dadurch gekennzeichnet, daß
der oder die Verlängerungsringe (14) über eine Gewindeverbindung jeweils das Mittelteil außenseitig abdichten.
14. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 13,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Behälter (1) und der wenigstens eine Deckel (3) auf beiden Seiten mit einem Spannring (15) zur Einleitung von Roll- oder Drehbewegungen für den Behälter (1) und dem wenigstens einen Deckel (3) versehen ist.
15. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 14,
dadurch gekennzeichnet, daß

an den Zulaufanschluß (8) eine Druckbeaufschlagungseinrichtung (17) für den Behälter (1) angeschlossen ist.

16. Vorrichtung nach Anspruch 15,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Druckbeaufschlagungseinrichtung (17) als Zylinder-/Kolbeneinheit ausgebildet ist.
17. Vorrichtung nach Anspruch 16,
dadurch gekennzeichnet, daß
der in einen Kolbenraum (18) der Zylinder-/Kolbeneinheit (17) mündende Zulaufanschluß (8) mit einem Rückschlagventil (19) versehen ist.
18. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 15 bis 17,
dadurch gekennzeichnet, daß
durch die Druckbeaufschlagungseinrichtung (17) der Innenraum des Behälters (1) mit den Zellen (7) wechselnden Druckbelastungen aussetzbar ist.
19. Vorrichtung nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß
der wenigstens eine Deckel (3) des Behälters (1) mit einer Hängeeinrichtung (21) versehen ist, an der eine Plattform (22) zur Aufnahme der Zellen (7) angeordnet ist.
20. Vorrichtung nach Anspruch 19,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Hängeeinrichtung (21) durch sich von dem Deckel (3) in das Behälterinnere erstreckende Stäbe gebildet ist, an deren unterem Ende die Plattform (22) angeordnet ist.

21. Vorrichtung nach Anspruch 20,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Plattform (22) lösbar mit den Stäben (21) verbunden
ist.
22. Vorrichtung nach Anspruch 21,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Plattform (22) durch eine Clipverbindung mit den
Stäben (21) verbindbar ist.
23. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 19 bis 22,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Behälter (1) einen zylinderringförmigen Mittelteil
aufweist, der an beiden Stirnseiten durch einen oberen
Deckel (3) und einen unteren Deckel (12) abgeschlossen
ist, wobei die Hängeeinrichtung (21) mit der Plattform
(22) an dem oberen Deckel (3) angeordnet ist.
24. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 19 bis 23,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Behälter (1) als Zweikammersystem zum Züchten oder
Kultivieren von zwei Zellkulturen (7,7') vorgesehen ist.
25. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 24,
dadurch gekennzeichnet, daß
in dem Behälter (1) eine magnetisierbare Druckscheibe
(25) angeordnet ist, die durch eine Magnetisiereinrich-
tung (24) zur inneren Druckbeaufschlagung auf die Zellen
(7) bewegbar ist.

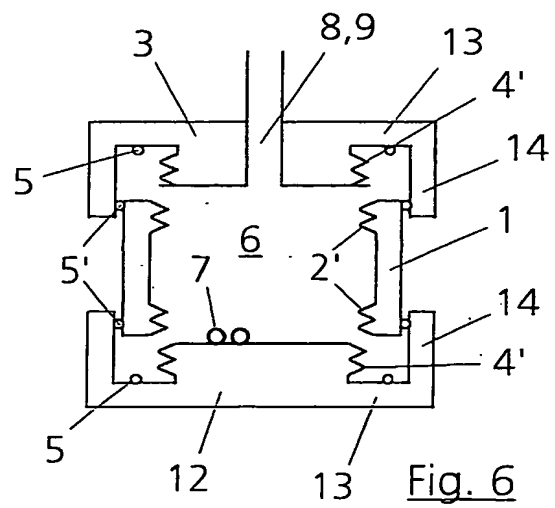
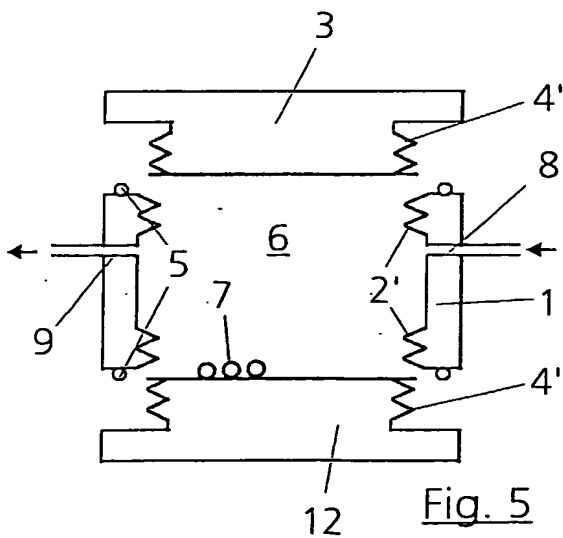
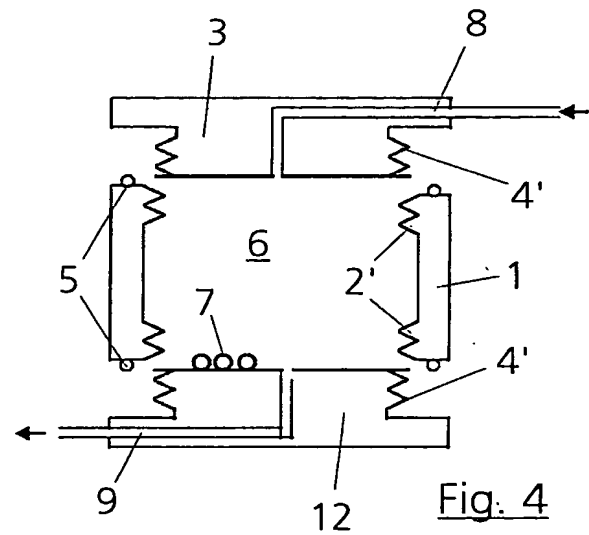
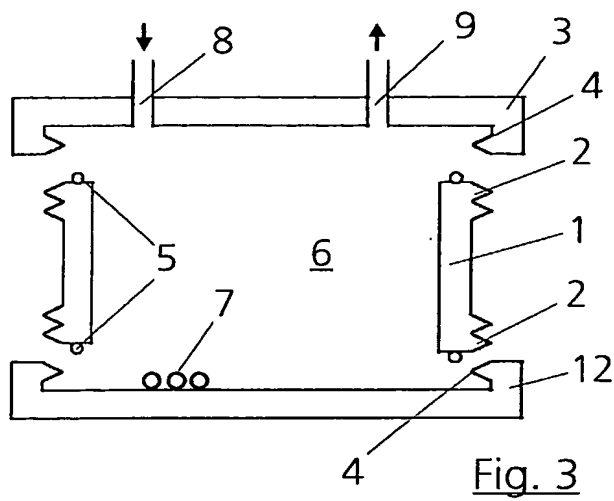
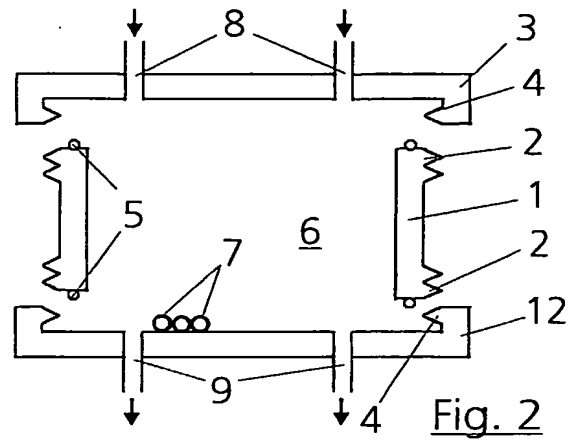
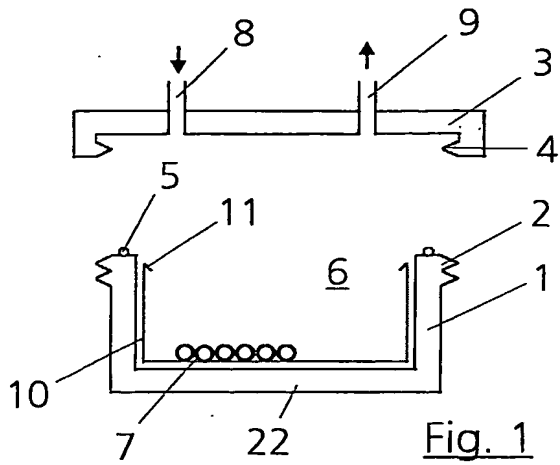
26. Vorrichtung nach Anspruch 25,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Druckscheibe (25) mit Bohrungen (26) versehen ist.
27. Vorrichtung nach Anspruch 25,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Druckscheibe (25) eine Gitter- oder Netzstruktur
aufweist.
28. Vorrichtung nach Anspruch 25,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Zellen (7) auf einer Trägerstruktur (27a) angeordnet
ist, die auf ein oder beiden Seiten von einer Druck-
scheibe (25) beaufschlagt ist.
29. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 24,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Behälter (1) mit expansionsfähigen Elementen (28)
zur inneren Druckbeaufschlagung der Zellen (7) versehen
ist.
30. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 24,
dadurch gekennzeichnet, daß
zur inneren Druckbeaufschlagung eine hydraulische oder
pneumatische Einrichtung (30) mit einer beweglichen Fo-
lie, Platte oder Membrane (31) in dem Behälter (1) ange-
ordnet ist.
31. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 30,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Zellen (7) in einem Gel (32) angeordnet sind.

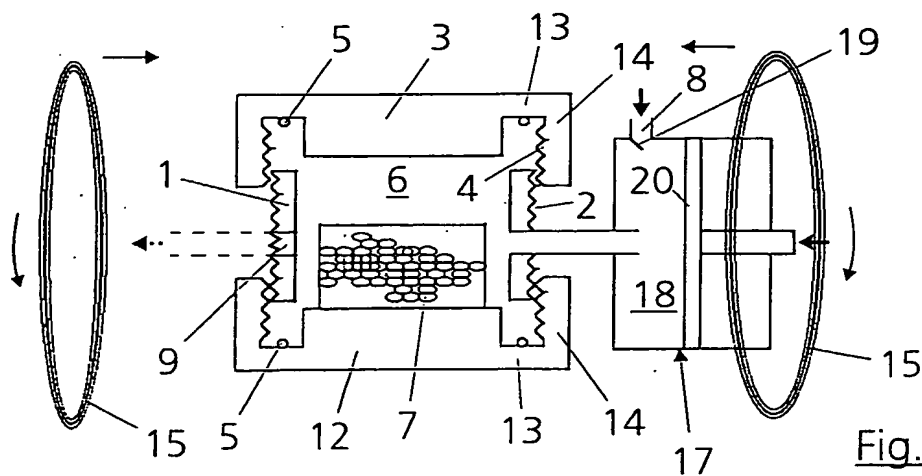
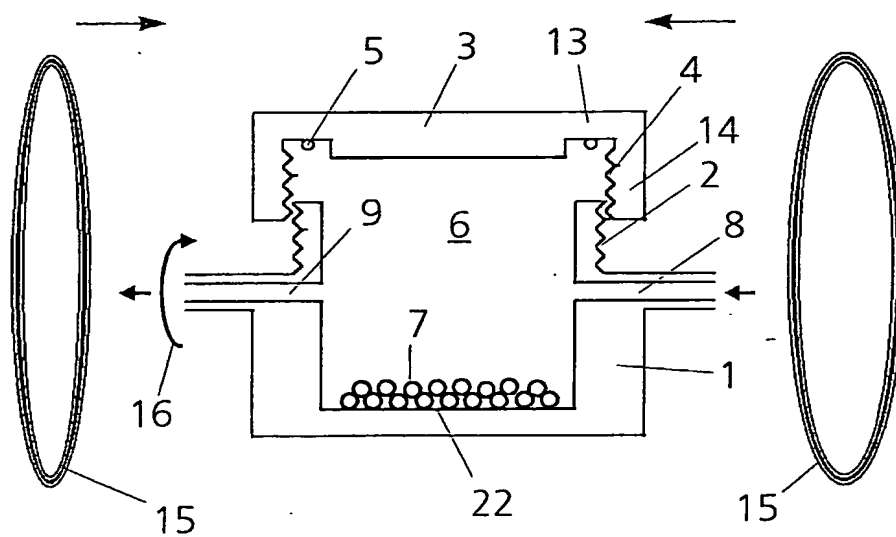
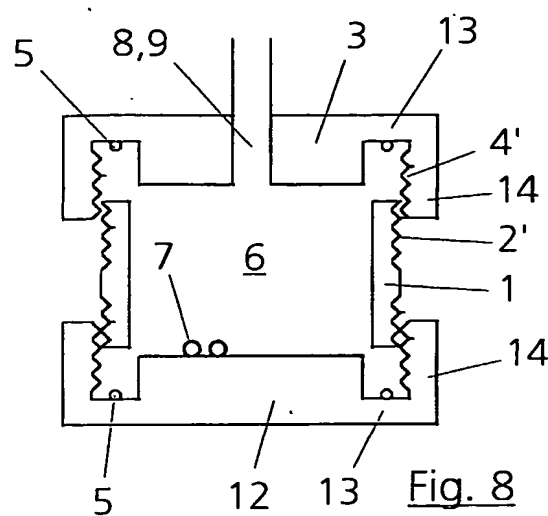
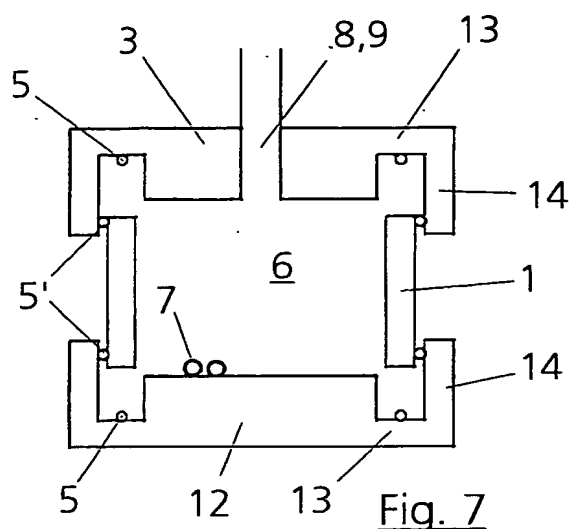
32. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 31,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Behälter (1) durch einen oberen Deckel (3) und einen
unteren Deckel (12) gebildet ist, wobei zur Abdichtung
zwischen den beiden Deckeln (3,12) Dichtringe (33,34)
vorgesehen sind.
33. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 32,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Boden (23) des Behälters (1) durch eine gas-
permeable Membrane (35) gebildet ist.
34. Vorrichtung nach Anspruch 33,
dadurch gekennzeichnet, daß
die gas-permeable Membrane (35) durch eine Abdichtstruk-
tur (39) abgedeckt ist.
35. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 34,
dadurch gekennzeichnet, daß
wenigstens ein Teil der Innenwände des Behälters (1) mit
einer abziehbaren Folie (40) versehen ist.
36. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 35,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Behälter (1) als Mehrkammersystem (Kammern 41,
42,43) ausgebildet ist.
37. Vorrichtung nach Anspruch 36,
dadurch gekennzeichnet, daß
zwischen einer zweiten Kammer (42) und einer dritten

Kammer (43) ein poröser Träger (44) angeordnet ist.

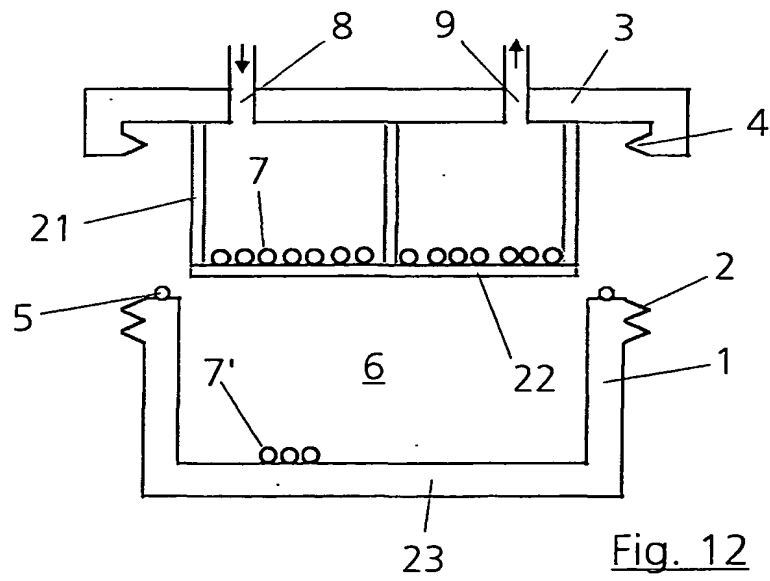
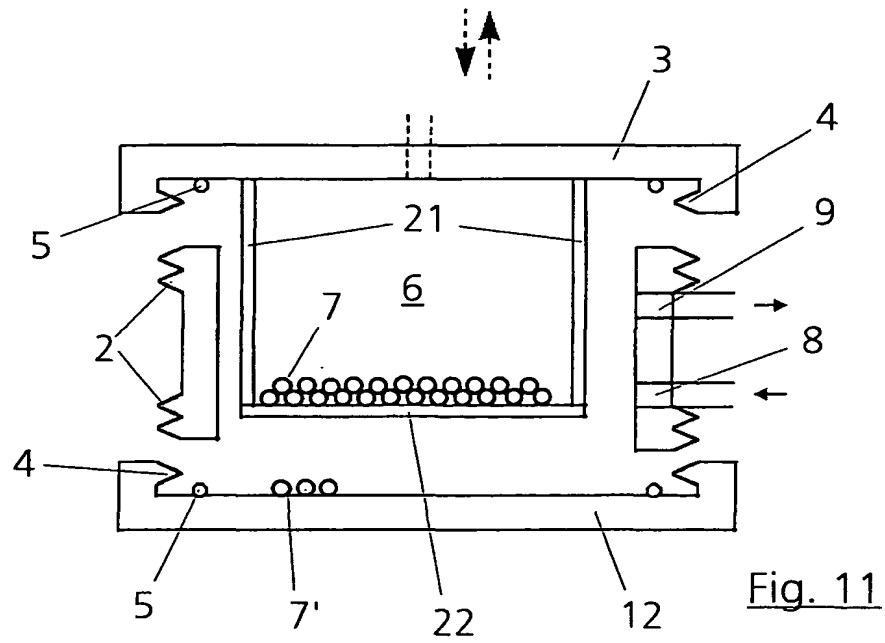
38. Vorrichtung nach Anspruch 36 oder 37,
dadurch gekennzeichnet, daß
in einer ersten Kammer (41) in einem ersten Schritt
Nährmedium und in einem zweiten Schritt ein gasförmiges
Medium einbringbar ist.

1/7





3/7



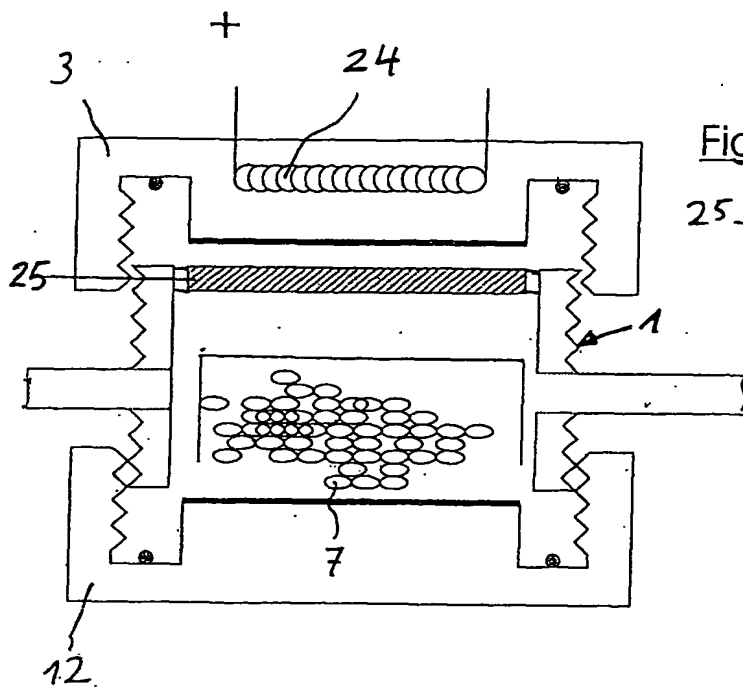


Fig. 13

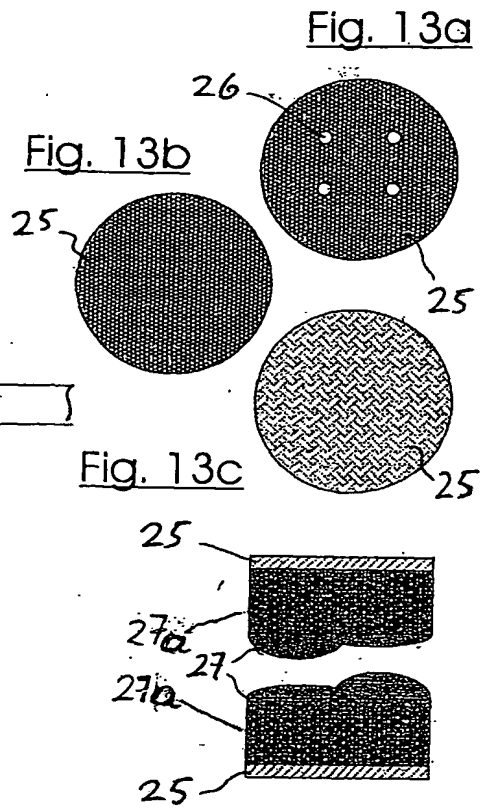


Fig. 13d

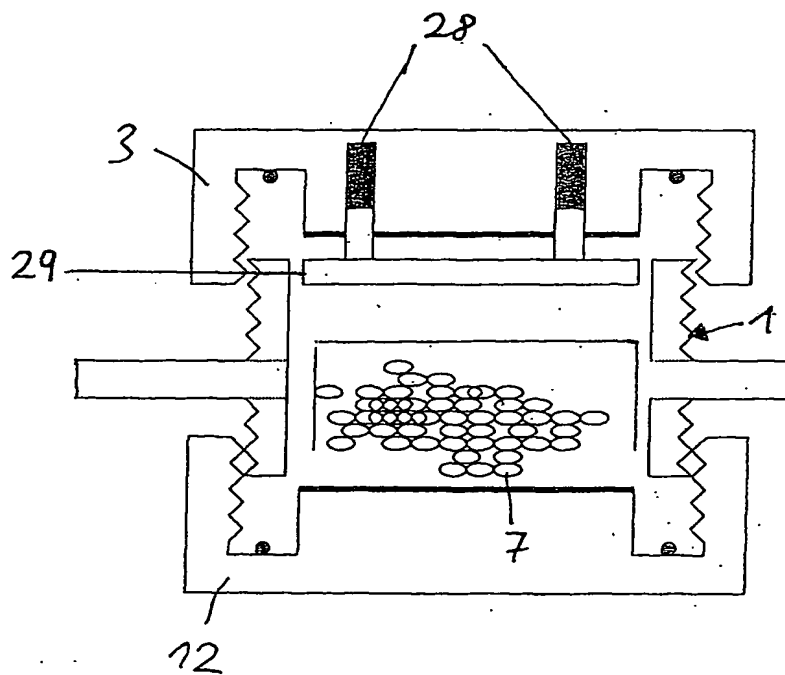


Fig. 14

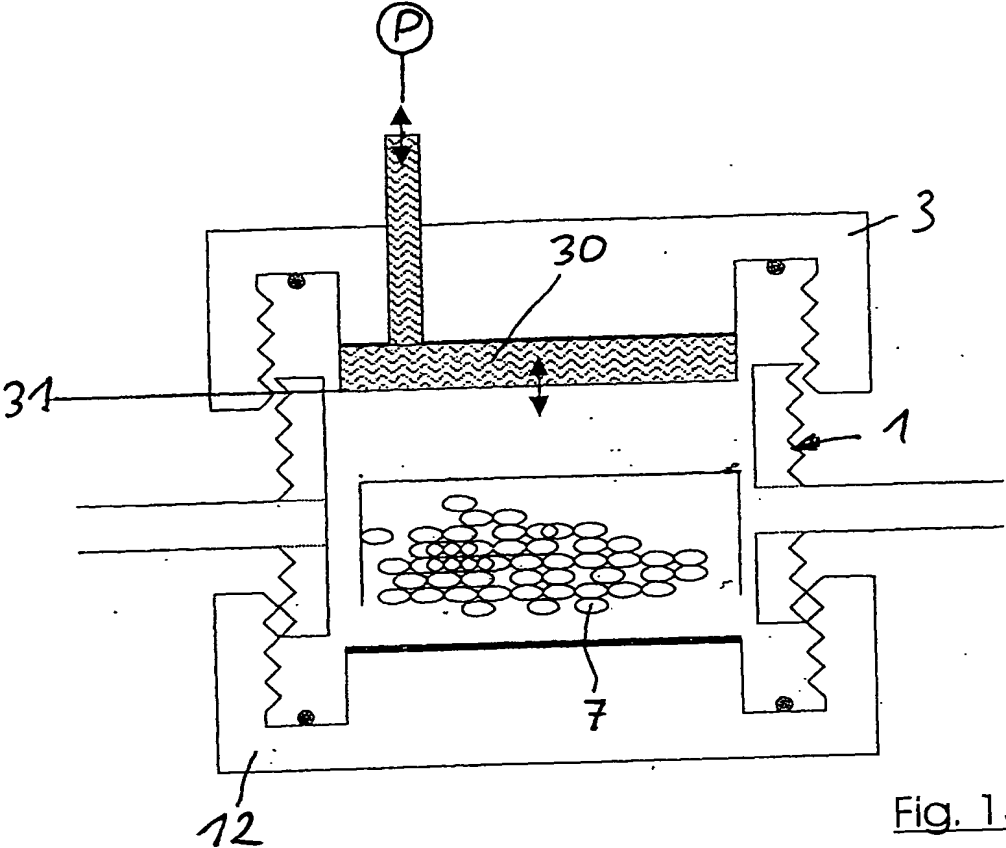


Fig. 15

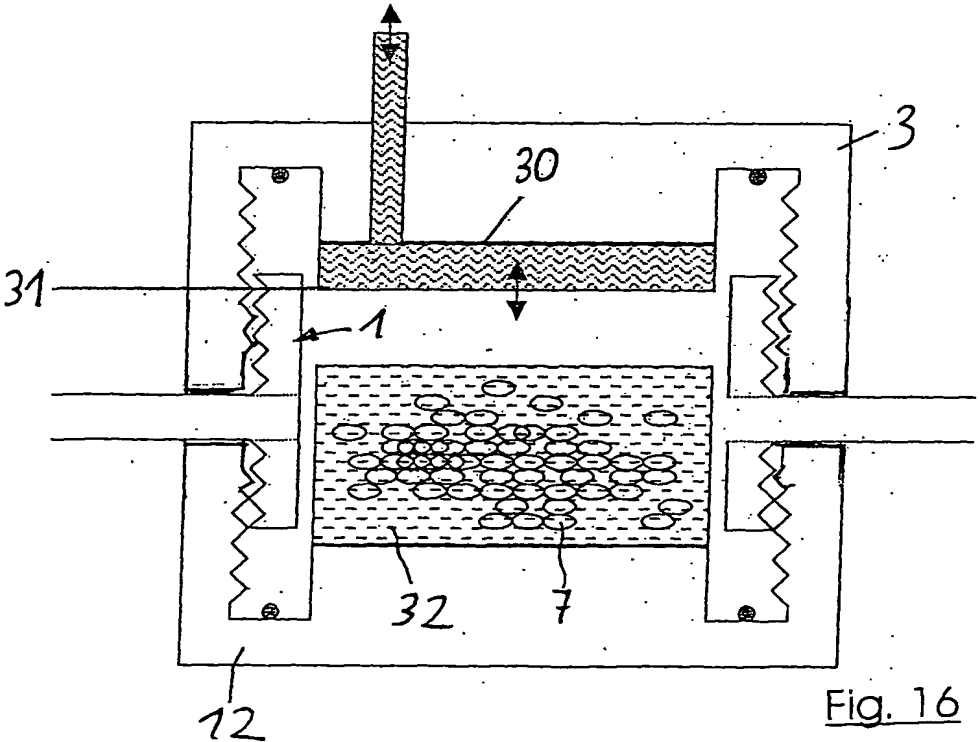


Fig. 16

6/7

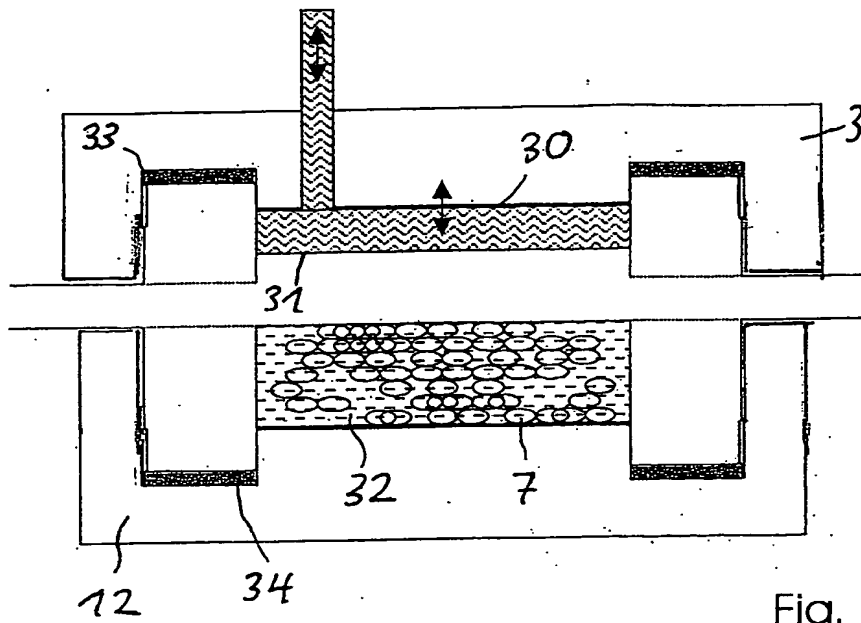


Fig. 17

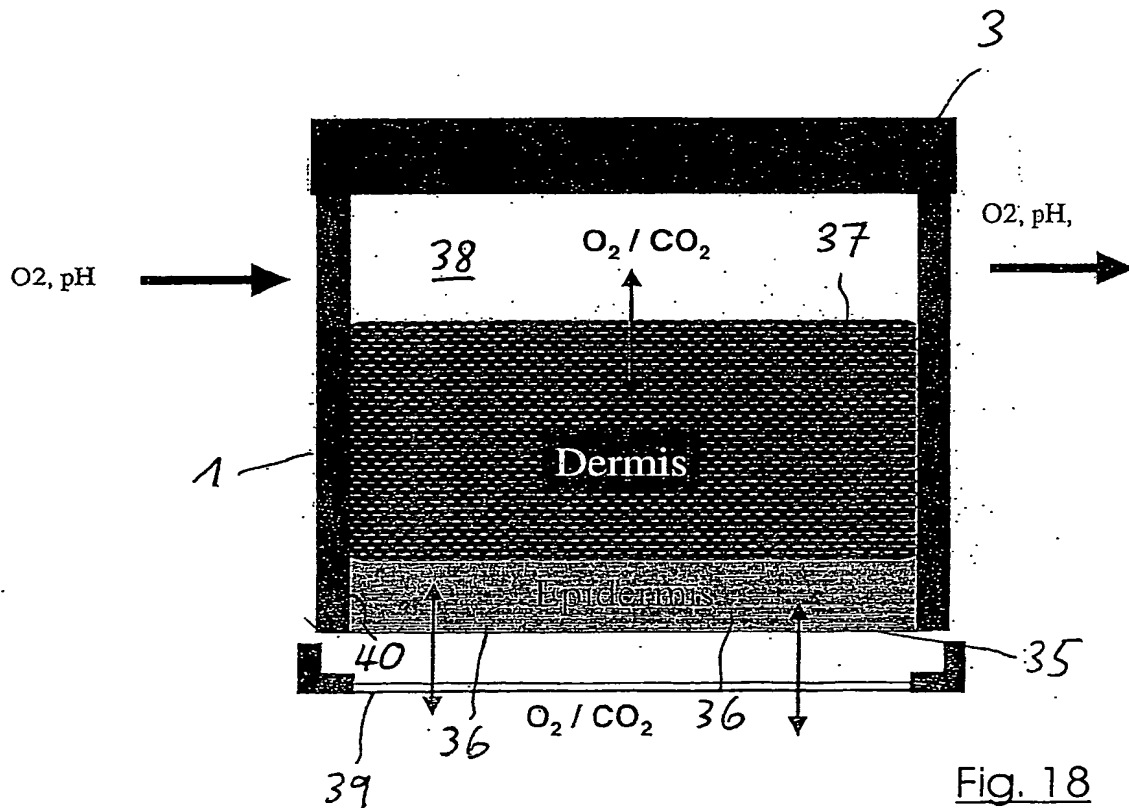


Fig. 18

BEST AVAILABLE COPY

7/7

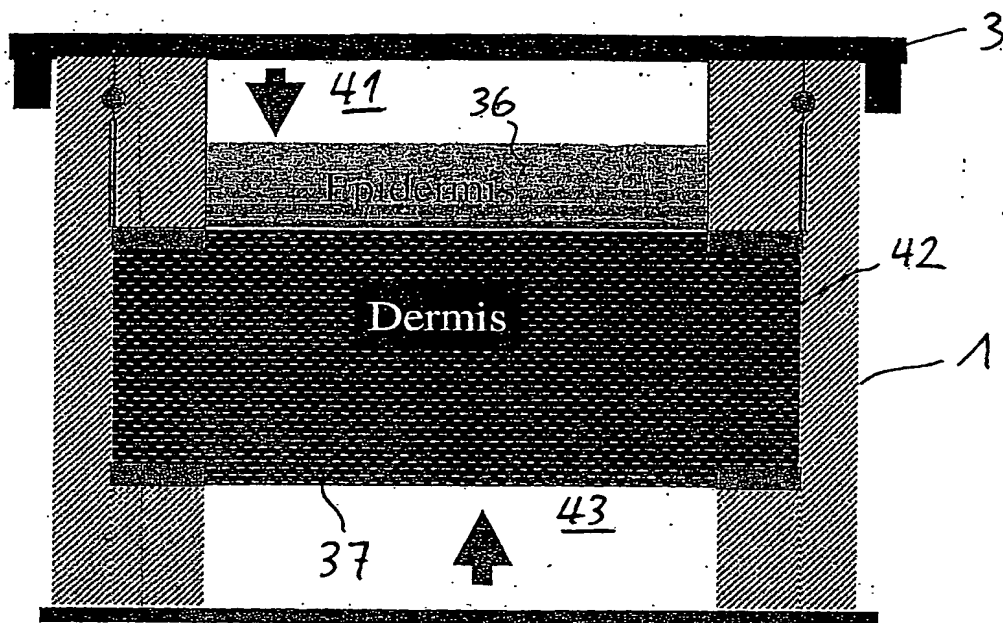


Fig. 19

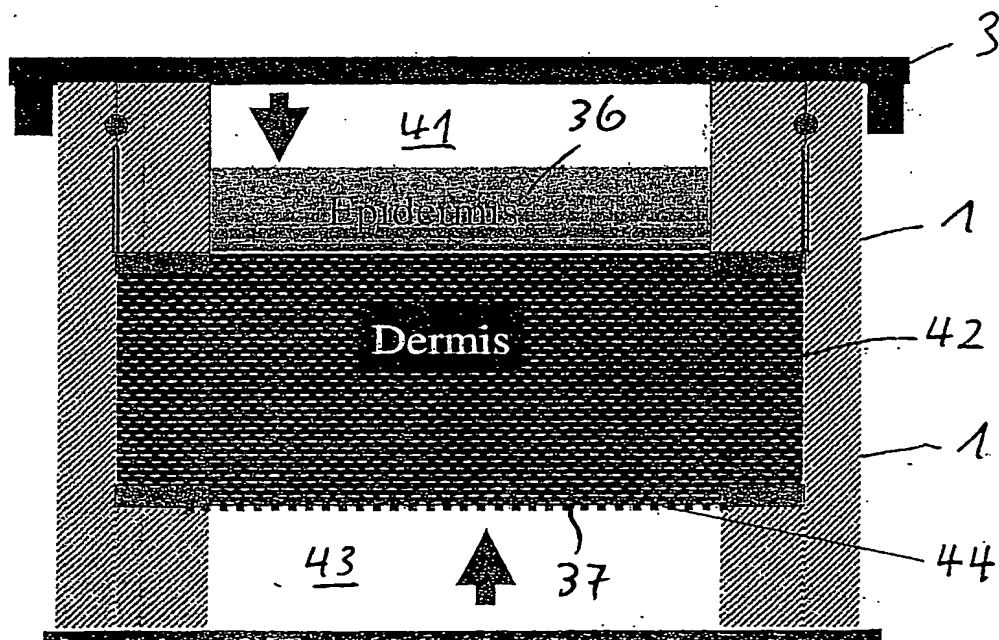


Fig. 20

BEST AVAILABLE COPY